

06

BCR-ABL-Mutationsdiagnostik und deren Bedeutung für die tägliche Behandlung

Martineti F, April 2018 | Durch den Einsatz von Tyrosinkinasehemmern (TKI) konnte die Therapie der chronischen myeloischen Leukämie (CML) und der Philadelphia-Chromosom-positiven akuten lymphatischen Leukämie (Ph+ ALL) entscheidend verbessert werden. Dennoch stellen resistenzvermittelte Phasen ein klinisch relevantes Problem und eine große Herausforderung in der Behandlung dar. Die häufigste Ursache hierfür sind Mutationen in der BCR-ABL-Kinasebox. Trotz ihrer relativ geringen Empfindlichkeit wird die Senge-Seq-Untersuchung von Einzelnen Leukozyten (ELN) derzeit noch als Standardmethode für die Mutationsanalyse im Rahmen der molekularen Monitoring der CML und Ph+ ALL empfohlen [1]. Neue, sensitive Sequenzierungsmethoden (Next-Generation-Sequencing, NGS) ermöglichen eine schnellere und genauere verbessernde Analyse der Komplexität und Diversität der mutierten Kinase. Prof. Dr. Gionata Saverini von der Universität Bologna erläutert die Entwicklung der diagnostischen Möglichkeiten und den Einsatz der NGS Verfahren im Vergleich der CML und ALL.

Wichtige Aspekte auf einen Blick:

- Die genetische Instabilität bei Ph+ Leukämien begünstigt die Akkumulation zusätzlicher chromosomaler Aberrationen und weiterer Mutationen, die das Progressionsrisiko erhöhen.
- Die klinische Selektion zu verhindern, ist besser als aufgetrennte TKI-resistente Klone zu behandeln.
- Die BCR-ABL-Mutationsprofile sind von Art und Reihenfolge der TKI-Inhibition abhängig.
- Nach TKI-Vertragen in der Erst- oder Zweitlinie ist die optimale Sequenz der weiteren TKI-Wahl wichtig.
- Das BCR-ABL-Mutationscreening ermöglicht einen rechtzeitigen TKI-Wechsel bei Therapieversagen und liefert wichtige Informationen bezüglich der TKI-Wahl und der Abfolge in der Sequenz.
- NGS-Verfahren ermöglichen eine verbesserte BCR-ABL-Mutationsanalyse und eine höhere Detektion von TKI-Resistenzmutationen.

Das Auftreten eines klinischen Response gegenüber Erst- und Zweitgeneration TKI ist häufig zurückzuführen auf eine BCR-ABL-Mutation in einem leukämischen Klon. Dies ist mit einem Wiederanstieg der BCR-ABL-Expression und manchmal auch mit dem Verlust des zytogenetischen Ansprechens assoziiert. BCR-ABL-Mutationen werden aber nicht durch TKI ausgelöst, sondern entstehen unabhängig aufgrund einer allgemeinen genomischen Instabilität der Leukozyten und werden unter der jeweiligen TKI-Therapie selektiert [2]. Da bei CML und ALL unterschiedlichen Haplozytogenen der BCR-ABL-Transkript, in denen missense-orientierte Mutationen auftreten, sind insbesondere "stopcodon" in der Protein-Struktur, die Folge der Anzahl dieser mit in der "Aminosäure" der TKI besitzenden Hotspots ist, was wahrscheinlich zur Entwicklung einer Resistenz, während es weiter ist, und bei Inhibitoren mehr als 20 Mutationen-Hotspots betrafen, während bei Nilotinib, Dasatinib und Bosutinib das Spektrum der Resistenzmutationen mit jeweils drei bis vier Hotspots deutlich enger, aber teilweise überlappt. Im Vergleich dazu zeigt der Drittgeneration TKI Ponatinib (Ibrutinib) keine Lücke in der Wirksamkeit gegenüber den bisher schwer behandelbaren Mutationen inklusive der T315I, die bisher nur von Ponatinib gehemmt wird [3, 4].

BCR-ABL-Mutationsprofile von Art und Reihenfolge der TKI-Inhibition abhängig

Diese von klinischen Studien systematisch ermittelten, dass die sequenzierte Analyse von TKI mit unterschiedlichen Wirkstoffen gegenüber BCR-ABL-Mutationen zum Auftreten von bestimmten Mutationen führt, wie z. B. zur Selektion der multiresistenten T315I-Mutation oder zum Erwerb neuer TKI-spezifischer Mutationen. Diese können in Form von zusammengesetzten Mutationen in selben Klon (z.B. Compound-Mutationen) oder als multiple Einzelmutationen in unterschiedlichen Zellklonen auftreten [5]. Die Compound-Mutationen sind in ihrer Zusammensetzung abhängig vom angewandten TKI und sind die TKI-Abfolge und können oft zu komplexeren Resistenz gegenüber Erst- und Zweitgeneration TKI, vor allem wenn sie in Kombination mit der T315I-Mutation auftreten [5]. Patienten hingegen zeigen in vivo auch bei sequenzierten schwer behandelbaren Compound-Mutationen eine Wirksamkeit [5]. Das Wissen um diese Sequenz zeigt, dass die sequenzierte Resistenz gegenüber einem Zweit- oder Drittgen TKI in der Mehrheit der Fälle mit dem Auftreten neuer BCR-ABL-Mutationen verbunden ist und dass Patienten, die bereits BCR-ABL-Mutationen aufweisen, für die Entwicklung zusätzlicher Mutationen mit separater TKI-Resistenz prädisponiert sind [6]. Als das Sprichwort für die Individualisierung der Zweit- und Drittgeneration entsprechend dem Mutationsprofil, "das keine noch sensiblen Wirkstoffalternativen involviert, denn mutige Mutationen können in geringer Zahl, unadäquater Zahl funktionieren, während der Zweit- oder Drittgeneration selektiert werden und dann progressiv become und zur Resistenz führen, während Patienten Events.

Bedeutung der Mutationsanalyse bei CML

Bei CML-Patienten in chronischer Phase bildet eine BCR-ABL-Mutationsanalyse die Situation des Therapieversagens oder der Wahrung vorbehalten, nachdem andere Ursachen wie schlechte Adhärenz oder Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten ausgeschlossen werden [1]. Zur Mutationsanalyse wird die konventionelle Senge-Seq-Untersuchung empfohlen. Demen Sensitivität zum Mutationsnachweis ist jedoch relativ gering und geht nur, wenn 15 bis 20 % der Zellen die Mutation tragen. Mit neuen Sequenzierungsverfahren wie NGS lassen sich auch niedrig frequente Mutationen von bis zu 1% nachweisen. In einer Untersuchung zur NGS konnten Savarini et al. an 23 mehrfach resistenter Patienten mit CML oder Ph+ ALL und einer oder mehr TKI-Resistenzmutationen zeigen, dass die Senge-Seq-Untersuchung der BCR-ABL-Mutationsstatus bei 5% der untersuchten Proben falsch negative oder unrichtige [7, 8].

Neudefinierte Mutationen (1-15 % der Zellen) wurden nur durch NGS detektiert; die Mehrheit der Proben wies multiple Subklone mit verschiedenen Mutationen auf und zeigte unter TKI-Therapie eine erhebliche Dynamik [7, 8].

Bedeutung der Mutationsanalyse bei Ph+ ALL

Auch bei der Ph+ ALL wird die Detektion von weiteren BCR-ABL-Mutationen unter aktueller TKI-Therapie die Hauptursache für Resistenz der Wirkung ist es die T315I-Mutation, gegen die TKI der ersten und zweiten Generation unwirksam sind. Selbst bei Inhibitoren-resistenten Patienten, die auf eine Zweitgeneration TKI ansprechen, ist die Resistenz oft nur von kurzer Dauer, wahrscheinlich aufgrund der hohen genomischen Instabilität der ALL-Zellen, die zum Erwerb weiterer Mutationen, häufig in Form von Compound-Mutationen, führt. Die Optimierung der Ph+ ALL-Behandlung könnte daher von einem routinemäßigen, sensiblen BCR-ABL-Mutationscreening durch NGS profitieren, um frühzeitig resistente Mutationen zu identifizieren, bevor diese zu einem klinischen Response führen. Durch den Einsatz von weiteren zur Verfügung stehenden Therapien wie Transplantationen von Transplantationen oder die klinische Auswertung eingegrenzter sind in die Careline der Patienten verbessert werden.

Zusammenfassung

Da bei CML entscheidende missense-orientierte BCR-ABL-Mutationen und insbesondere stopcodon identifiziert, tritt bei einem Patienten eine Kombination von z. B. einer Inhibitoren-resistenten CML und einer mutigen Mutation auf, kann die derzeit nur durch eine sensitive Mutationsanalyse wie dem NGS, jedoch nicht durch konventionelle Sequenzierung nachgelesen werden. Daher könnte sich das NGS besser dazu eignen, um auch potenziell klinisch relevante neudefinierte Mutationen zu detektieren, die bezüglich Art und Reihenfolge der TKI von Bedeutung sein könnten. Ihr Nutzen wird jedoch auf die Beschreibungsstellung korrelieren, um diese molekulare Diversität und die sensiblen NGS Verfahren durch den Patienten zugänglich zu machen. Ich bin überzeugt, dass NGS sicherlich bald eine wichtige Rolle für die Monitoring von CML-Patienten mit Resistenzmutationen in der klinischen Praxis spielen wird - wann auch die Experten.

Anmerkung

- *Ibrutinib ist indiziert bei erwachsenen Patienten mit

- chronischer myeloischer Leukämie (CML) in der chronischen Phase, akuter Phase oder Blastenphase, die behandelungsresistent gegenüber Dasatinib bzw. Nilotinib sind, die Dasatinib oder Nilotinib nicht vertragen und bei denen eine anschließende Behandlung mit Inhibitoren klinisch nicht geeignet ist, oder bei denen eine T315I-Mutation vorliegt
- Philadelphia-Chromosom-positiver akuter Lymphoblastenleukämie (Ph+ ALL), die behandelungsresistent gegenüber Dasatinib sind, die Dasatinib nicht vertragen und bei denen eine anschließende Behandlung mit Inhibitoren klinisch nicht geeignet ist, oder bei denen eine T315I-Mutation vorliegt [9]

Referenzen

1. Baconen M et al. Blood 2013; 122:872-884
2. Savarini S et al. Mol Cancer 2016; 17:49
3. Zabrato MG et al. Cancer Cell 2014; 26:429-440
4. Ibrutinib Fachinformation Stand Februar 2018
5. Duh NH et al. J Clin Invest 2007; 117:2962-2969
6. Savarini S et al. Blood 2008; 114:2169-2171
7. Savarini S et al. Blood 2013; 122:1634-1648
8. Savarini S et al. BMC Cancer 2016; 16:572

Quelle: Präsentation der Inzivt Biotechnologie Germany GmbH, DLR/BCH/ABE: Mikrobielle Diagnostik und deren Bedeutung für die klinische Behandlung, 10.04.2016, Frankfurt/AM (DE)